

THESIS

MUNICH

1967

ÜBER DIE PHOSPHATIDE DES PLASMAS,
SPEZIELL BEI KRANKHEITEN DER LEBER

Heinz Alter

LANE MEDICAL LIBRARY OF
STANFORD UNIVERSITY
300 PASTEUR
PALO ALTO, CALIFORNIA

AUS DER MEDIZINISCHEN POLIKLINIK DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Direktor: Prof. Dr. W. Seitz

ÜBER DIE PHOSPHATIDE DES PLASMAS,
SPEZIELL BEI KRANKHEITEN DER LEBER

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Heinz Alter
aus Geisenfeld/Ilm

München 1967

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter;	Prof. Dr. N. ZÖLLNER
Mitberichterstatter;	Prof. Dr. W. SEITZ
Dekan;	Prof. Dr. M. KIESE

Tag der mündlichen Prüfung: 9. 5. 1967

DISPOSITION

A.	EINLEITUNG	5
B.	METHODIK	6
I.	Lipoidextrakt	6
II.	Leberhomogenat	6
III.	Bestimmung der Gesamtphosphatide	6
IV.	Gaschromatographische Bestimmung der Phosphatidfettsäuren	7
1.	Abtrennung der Phosphatidfraktion durch Säulenchromatographie	7
a)	Herstellen einer Säule	7
b)	Aufbringen des Lipoidextraktes	7
c)	Entwicklung	8
d)	Überprüfung der säulenchromatographischen Trennung durch Dünnschichtchromatographie	8
2.	Umesterung und Mikroextraktion	9
3.	Hydrierung	9
4.	Gaschromatographie	10
V.	Dünnschichtchromatographische Analyse der Phosphatidfraktionen	10
C.	ERGEBNISSE UND DISKUSSION	12
I.	Phosphatidfettsäuren	12
1.	Normalwerte	12
2.	Lebercirrhose	13
3.	Andere Krankheiten	15
II.	Phosphatidfraktionen	16
1.	Normalwerte	16
2.	Lebercirrhose	16
3.	Lebergewebe	17
4.	Neugeborene	17
D.	TABELLEN UND ABBILDUNG	18
E.	ZUSAMMENFASSUNG	31
E.	LITERATURNACHWEIS	33



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40153723_0046

A. EINLEITUNG

1862 wurden von FLINT (13) erste Angaben über Veränderungen der Serum-lipoide bei Leberkrankheiten gemacht, wobei er eine Anhäufung von "Cholesterin" im Blut von Leberkranken feststellte. Spätere Untersuchungen (25) wiesen neben den pathologischen Ergebnissen der Cholesterinfraktion auch auf Störungen der Phosphatide hin. Abgesehen von der Einteilung der Lipoide in einzelne Klassen und deren Bestimmung konnten aus methodischen Gründen jedoch relativ wenig neue Erkenntnisse über den Lipidstoffwechsel gewonnen werden.

Mit Hilfe der Säulen-, Papier- und vor allem der Dünnschichtchromatographie gelingt eine schnelle und scharfe Auftrennung der Phosphatide in die Fraktionen Lysolecithin, Sphingomyelin, Lecithin und Kephalin. Die Ergebnisse dieser Auftrennung zeigten die geringe Bedeutung der bisher durchgeführten Gesamtposphatidbestimmungen. Bei normalen Werten der Gesamtposphatide ergaben sich bei Leberkranken große Verschiebungen in der quantitativen Zusammensetzung der einzelnen Anteile gegenüber den Vergleichswerten. Weitere neue Einblicke wurden durch die Einführung der Gaschromatographie von JAMES und MARTIN (22) vermittelt, die die Trennung und quantitative Bestimmung sehr kleiner Mengen der Methylester gesättigter, einfach und mehrfach ungesättigter Fettsäuren ermöglicht.

Außer gaschromatographischen Analysen der Fettsäuren der Phospholipoide menschlicher Fettlebern (35, 43) liegen bisher keine Angaben über Fettsäureuntersuchungen bei Leberkrankheiten vor.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war die qualitative und quantitative Analyse der Phosphatidfettsäuren im Serum und Lebergewebe von Normalpersonen, im Serum von Patienten mit Lebercirrhose und einzelnen Fällen anderer Krankheiten mit Hilfe der Gaschromatographie. Diese Analysen sollten durch orientierende dünnschichtchromatographische Untersuchungen über die Verteilung der Phosphatidfraktionen (Lysolecithin, Sphingomyelin, Lecithin und Kephalin) im Serum und Lebergewebe von Normalpersonen, Neugeborenen und einigen Fällen von Lebercirrhose ergänzt werden.

B. METHODIK

Zur Chromatographie und zu den Analysen wurden Reagentien und Lösungsmittel mit p. A. Reinheitsgrad verwandt.

I. LIPOIDEXTRAKT

Das aus der V. cubitalis entnommene Blut wurde 15 Minuten bei ungefähr 3400 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert. Aus 4 ml des abpipettierten Serums wurde ein Lipoidextrakt nach SPERRY (41) hergestellt. Bei dieser Ausgangsmenge erhielt man nach Ausschütteln des Chloroform-Methanol-Extraktes mit 0,2 % wässriger CaCl_2 -Lösung eine untere lipoidhaltige Phase von etwa 56 ml.

II. LEBERHOMOGENAT

Zu Lebergewebe (z. B. 5 g) wurde eine, dem Gewicht des Organstückes gleiche Menge physiologische NaCl (z. B. 5 ml) gegeben und beides in einem Rotations-Messer-Homogenisator (EDMUND BÜHLER, Tübingen) zu einem dünnflüssigen, pipettierbaren Brei verarbeitet. Die Extraktion der Lipide erfolgte nach dem oben angeführten Verfahren.

III. BESTIMMUNG DES GESAMTPHOSPHOR

Der Gesamtphosphor aus dem Lipoidextrakt wurde nach der Methode nach BARTLETT (2) bestimmt.

1 ml Lipoidextrakt der unteren Phase bzw. 1 ml von Fraktion II (s. Tab. II) wurde im Wasserbad eingedampft, in 0,5 ml 10 n H_2SO_4 aufgenommen und 6 Stunden bei 160° C verascht, wobei nach 4 Stunden 2 Tropfen H_2O_2 zugegeben wurden. Der farblose Rückstand von 0,2 ml wurde bei Zugabe von

0,4 ml Ammoniummolybdat und 0,2 ml Reduktionsmittel jeweils geschüttelt und mit aqua bidest. auf 5 ml gebracht. Alle Gläser wurden mit Glas-
kugeln abgedeckt und verblieben 7 Minuten in einem kochenden Wasserbad.
Zu jeder Analyse wurden 3 unveraschte und veraschte Eich- und Leerwerte
mitbestimmt. Die Menge des durch das Reduktionsmittel entstandenen Molyb-
dänblau ist der enthaltenen Phosphormenge proportional. Nach Abkühlen der
Gläser folgte die Ablesung im Zeiss-Spektralphotometer bei einer Wellenlän-
ge von 830 mμ gegen destilliertes Wasser. Der Extinktionswert der Leerprobe
lag im Durchschnitt bei 0,023, der der Eichwerte von 1 P bei 0,175.

IV. GASCHROMATOGRAPHISCHE BESTIMMUNG DER PHOSPHATID- FETTSÄUREN

1. Abtrennung der Phosphatidfraktion durch Säulen- chromatographie

a. Herstellen einer Säule

Als Chromatographiesäule dient ein gewöhnliches, unten schräg abgeschnittenes
Glasrohr (Länge 10 cm, Durchmesser 1 cm) mit angeschmolzenem Lösungs-
mittelreservoir (Volumen 100 ml). Kieselgel (Mallinckrodt 100 mesh, Serva
Heidelberg) wurde nach den Angaben von HIRSCH und AHRENS (20) über
Nacht bei 115° C im Trockenschrank aktiviert. Vor Herstellung der Säule
wurde in den konischen Teil über der Abtropfspitze eine 0,5 cm dicke Glas-
wollschicht eingebracht. Die Glaswolle wurde zur Entfernung von Verunrei-
nigungen vorher 60 Minuten in einem Methanol-Chloroformgemisch v:v 4:1
gekocht. Eine entsprechende Menge Kieselgel (2 g für ungefähr 8 mg Phos-
phatide) wurde nun langsam unter gleichmäßigem Beklopfen der Außenseite
des Rohres eingestäubt und nach oben mit einer kreisrunden Scheibe Filter-
papier, die vorsichtig einzubringen war, abgedeckt. Anschließend erfolgte
ein Vorwaschen mit 25 ml Chloroform p. A.

b. Aufbringen des Lipoidextraktes

42 ml des gewaschenen Chloroform-Methanolextraktes wurden im Rotations-
verdampfer bei einer Temperatur von 65-70° C getrocknet, 4 bis 5 mal in
jeweils 2 ccm Chloroform aufgenommen und mit einer Pipette vorsichtig
auf die Säule aufgebracht. Vor jeder neuen Zugabe war die Lösung einge-

sickert, wobei die Oberfläche nicht trocken werden durfte. Nach mehrmaligem Nachspülen wurde das Reservoir mit Lösungsmittel gefüllt.

c. Entwicklung

Die Elution der Neutralfette, des freien Cholesterins, der Cholesterinester und der Glyceride erfolgte mit Chloroform. Zur Abtrennung der Phosphatide wurde die Säule mit Methanol gespült. Vorversuche ergaben eine optimale Elution der neutralen Lipide, wenn 40 ml Chloroform pro 1 ml Serum verwendet wurde, zur Elution der Phosphatide waren 30-35 ml Methanol pro 1 ml Serum (s. Tab. I) nötig.

Der Durchfluß der Säule wurde durch geringe Druckerhöhung so geregelt, daß die von G.J. NELSON und N.K. FREEMAN (31) angegebene kritische Menge von 4-5 ml pro Minute nicht erreicht wurde.

Bei jedem 5. Versuch wurde die Säule nach den beiden angeführten Spülungen (Fraktion I und II, s. Tab. I) nochmals mit 100 ml Methanol nachgewaschen (Fraktion III), um eventuell zurückgebliebene Phosphatide zu erfassen und deren Menge zu bestimmen. Um das Maß der Elution der Phosphatide aus der Säule zu prüfen, wurde bei jedem Versuch außer der Gesamtphosphorbestimmung im Lipoidextrakt auch in Fraktion II eine Phosphorbestimmung nach BARTLETT (2) durchgeführt. In Tabelle II sind die im ursprünglichen Lipoidextrakt und in der Fraktion II ermittelten Gesamtphosphatide vergleichsweise zusammengestellt. Die in einigen Fällen höheren P-Werte in der Methanolfraktion können durch eine Verunreinigung des Kieselgels, des verwendeten Glasmaterials, oder auch des Peroxyds verursacht sein.

d. Überprüfung der säulenchromatographischen Trennung durch Dünnschichtchromatographie

30 g Kieselgel G (Merck) wurden mit 70 ml aqua dest. gleichmäßig gemischt. Die dünnflüssige Suspension wurde mit dem von STAHL (42) angegebenen Streichgerät (Modell der Fa. Desaga GmbH, Heidelberg) auf vorher mit Chloroform gründlich gereinigte Glasplatten (20 x 20 cm) in einer 0,25 mm dünnen Schicht aufgetragen. Anschließend wurden die fertigen Platten 30 Minuten bei 110° C getrocknet.

Vor dem Auftragen der Substanzen wurden die beschichteten Platten in der Chromatographiekammer durch einen Acetonvorlauf gereinigt.

Von Fraktion I (nichtphosphorhaltige Lipide) und Fraktion II (Phosphatide) wurden jeweils 1 ml, von der bei jedem 5. Versuch erhaltenen Fraktion III

die gesamte Menge (100 ml) eingedampft, in 0,2 ml Chloroform wieder gelöst und mit einer spitzen Mikropipette bandförmig aufgetragen.

Als Laufmittel diente das von ZÖLLNER und WOLFRAM (51) beschriebene Fließmittel C (Petroleumbenzin; Methyläthylketon; Eisessig 84:15:1, v:v:v). Das entwickelte Chromatogramm wurde gleichmäßig dünn mit 50 % H_2SO_4 besprüht und bei 160° C ca. 10 Minuten in den Ofen gestellt. Es zeigte sich eine Ankohlung aller organischen Verbindungen (s. Abb. 1).

2. Umesterung und Mikroextraktion

Die Fraktion II wurde in einem Schliffzentrifugenglas mit dem Rotationsverdampfer eingengt und nach Zugabe kleiner Siedesteine und 2 ccm 5 % methanolischer HCL 90 Minuten unter Rückfluß in einem Glycerinbad (75-80° C) gekocht. Die Extraktion erfolgte nach der Mikromethode von EBERHAGEN (9). In das abgekühlte Zentrifugenglas gibt man 1 ccm H_2O und 2 ccm Petroläther (1:1, v:v), worauf mit einem Magnetrührer etwa 1 Minute unter leichter Stickstoffeinwirkung kräftig durchgemischt wird. Nach erfolgter Phasentrennung überträgt man mit einer Lösungsmittelpipette (9) die obere Phase in ein anderes Schliffzentrifugenglas. Dieser Elutionsvorgang wird 4 bis 5 mal wiederholt. Das Neutralwaschen des Abgesaugten erfolgt mit aqua dest. und wird durch Indikatorpapier (Universal-Indikator pH 1-10, Fa. E. Merck) nachgewiesen. Nach Aufrühren mit wasserfreiem Na_2SO_4 bleibt das Ganze über Nacht stehen. Am darauffolgenden Tag wird die obere Phase abgesaugt (eventuell zentrifugiert), eingedampft und der Rückstand nach Auflösung in Chloroform (z. B. 0,01 g Fettsäuremethylester in 0,1 ml Chloroform) der Gaschromatographie zugeführt.

3. Hydrierung

Die C=C Doppelbindungen der in 5 ml Methanol gelösten Lipide werden in Wasserstoffatmosphäre bei Normaldruck 1 bis 2 Stunden unter leichtem Rütteln hydriert (10). Als Katalysator dient Palladiumkohle (Fa. Fluka, Buchs/Schweiz). Die mittels einer Pipette aus dem Kolben entnommene Lösung wird abfiltriert und eingedampft. Nach Anfertigung eines Gaschromatogramms der hydrierten Substanz erfolgt die Berechnung der Relativ-Prozente der einzelnen Fettsäureanteile.

4. Gaschromatographie

Die Analysen wurden mit einem PACKARD-Gaschromatographen (Modell 840) durchgeführt.

An Arbeitsbedingungen wurden eingehalten:

Säulenlänge 180 x 0,4 cm. Säulenfüllung mit Polyäthylenglykolbernsteinsäure-ester 20 % auf Chromosorb (60-80 mesh). Trägergas: Argon. Gasgeschwindigkeit ca. 60 cm/Min. Druckabfall 2,2 kg/ccm. Temperatur 196°C. Detektorspannung 500 Volt. Empfindlichkeit 1×10^{-8} und 3×10^{-8} .

Die Identifizierung der Banden erfolgte nach WOODFORD und VAN GENT (52). Die C-Zahl ergab sich dadurch, daß man den Logarithmus der Retentionszeiten der Bezugssubstanzen (Palmitin-Stearinsäure), die leicht im Chromatogramm zu identifizieren sind, auf Millimeterpapier gegen die Zahl der C-Atome dieser Leitkomponenten aufträgt. Die Verbindung dieser Punkte ergibt eine Gerade (JAMES und MARTIN 1952), auf der nun gewisse Punkte dem Logarithmus der Retentionszeit der übrigen Banden und damit auch gewissen Werten auf der Kohlenstoffzahl-"Ordinate" entsprechen.

Zur Berechnung der Bandenfläche wird die Höhe mit der Grundlinie des Dreieckes multipliziert, das durch Anlegen der Tangenten an die Wendepunkte der Bande und durch die Grundlinie gebildet wird. Nachdem die quantitative Verteilung der hydrierten Substanzen unter Berücksichtigung der Korrekturfaktoren ermittelt ist, erfolgt die Angabe der Säuren mit gleicher Kettenlänge, aber verschiedener Ungesättigtheit in der nichthydrierten Substanz nach der Verhältnismethode als Prozentanteil an der bereits erfaßten Gesamtfläche der hydrierten Substanz der jeweiligen Bande. Es wurden Fettsäuren von $C_{16:0}$ bis $C_{22:6}$ identifiziert. Da wegen der Inkonzanz sehr kleine Fraktionen nicht ausgewertet wurden, ergibt die Summe der aufgeführten Fettsäuren nicht 100 % (Tab. IV und VI).

V. DÜNNESCHICHTCHROMATOGRAPHISCHE ANALYSE DER PHOSPHATID-FRAKTIONEN

5-8 ml der unteren Phase des Lipoidextraktes (hergestellt nach SPERRY) wurden bei 70°C im Wasserbad eingedampft, in 0,2 ml Chloroform aufgelöst und auf mit Kieselgel G (nach STAHL) präparierten Chromatographieplatten, mit Hilfe des von WAGNER (46) angegebenen Fließmittels (Chloroform; Methanol; Wasser 65:25:4 v:v:v) in die Anteile Lysolecithin, Sphingomyelin, Lecithin und

Kephalin getrennt. Die Phosphatide wurden durch Besprühen mit KMnO_4 -Lösung sichtbar gemacht, die entsprechenden Bezirke der Dünnschicht mit einem Spatel in ein Zentrifugenglas gekratzt und 5 ml Methanol zugegeben. Nach mehrfachem kräftigen Aufrühren des Kieselgels wurde zentrifugiert und mit einem abpipettierten aliquoten Teil (4 ml) des Methanols die Phosphorbestimmung nach BARTLETT (2) durchgeführt. Aus den Extinktionen errechnet man die relativen Werte, aus dem prozentuealen Anteil an den Gesamtphosphatiden die Absolutwerte der einzelnen Fraktionen.

Bei mehreren Versuchen wurde vergleichsweise auch über eine Säule eluiert (Säulenlänge 9 cm, Durchmesser 0,6 cm, angeschmolzenes Reservoir 50 cm). Die jeweilige Kieselgelfläche wurde mit einem Trichter in das Chromatographierrohr eingebracht, dessen Abtropfspitze mit Glaswolle verschlossen war. Die Kieselgelfraktion war sowohl unten, wie oben, durch ein Filterpapierplättchen begrenzt, um beim Einbringen des Lösungsmittels ein Aufwirbeln bzw. Ausschwemmen des Trägerstoffes zu verhindern. Die Menge des Lösungsmittels betrug in den Versuchen 1-4 bei Benützung der Zentrifuge 5 ml, bei der Säulentrennung 10 ccm, 5 ccm und 10 ccm Methanol: Chloroform (9:1, V:v). Die Bestimmungen wurden an der Lecithinfraktion vorgenommen (Tab. III). Die Ergebnisse zeigen, mit Ausnahme von Versuch 1, geringere Extinktionswerte bei der Elution mit der Zentrifuge gegenüber der Verwendung der Säule. Wesentlich scheint dafür die geringe Menge an eingesetztem Lösungsmittel, und die verschiedene Berührungsintensität, bzw. -dauer von Lösungsmittel und Kieselgel zu sein. In den folgenden drei Versuchen wurden bei der Zentrifugenmethode nach Abpipettieren des aliquoten Teils (4 ml) zu dem Rückstand von 1 ml weitere 5 ml Methanol zugegeben, während die Bedingungen für die Säulentrennung gleichblieben. Ferner wurde auf ein gleichmäßiges und gründliches Vermischen von Lösungsmittel und Substanz bei einer genügend langen Einwirkungsdauer (mindestens 30 Minuten) geachtet. (Tab. III). Die routinemäßige Verwendung der Säule zur Elution des Lipoidphosphors aus den einzelnen Phosphatidfraktionen, ist trotz zuverlässiger Ergebnisse und einfacher Handhabung wegen des großen Materialaufwandes zu überlegen. (Für einen Versuch wären bei Mitbestimmung zweier Kontroll- und Kieselgel-Leerwerte 15 Säulen nötig.) Ähnlich befriedigende Werte (s. Tab. III) ergibt auch die Zentrifugenmethode bei genügendem Lösungsmiteleinsatz und sorgfältiger Durchführung. Dieser Elutionsvorgang nimmt allerdings mehr Zeit in Anspruch. Eine erweiterte Zielsetzung, die Fettsäuren der dünn-schichtchromatographisch dargestellten Phosphatidfraktionen gaschromatographisch aufzutrennen, wurde im Rahmen dieser Arbeit nicht erreicht. Wegen des geringen Fettsäuregehaltes in den kleinen Fraktionen (Kephalin, Lysolecithin) mußte zur Gewinnung der Minimalmenge für die gaschromatographische Bestimmung eine so große Men-

ge Lipoidextrakt zur Chromatographie aufgetragen werden, daß trotz Variation von Plattendicke und Fließmittel keine genügend konstante Trennschärfe erzielt wurde.

C. ERGEBNISSE UND DISKUSSION

In den Seren von 10 gesunden Versuchspersonen, von 10 Patienten mit Lebercirrhose, chronischer Hepatitis (2), chronischer Cholangitis (2), Verschlußikterus (2), Hypercholesterinämie (2), Pankreatitis (1), Nephrose (1), Glomerulonephritis (1), Hypernephrom (2), Arteriosklerose (2), Pleuracarcinose (1), chronischer myeloischer Leukämie (1), Polycythämie (1), Paraproteinämie (1), Lungeninfarkt (1) und Bronchialcarcinom (1) wurden gaschromatographisch die Fettsäuren der Phosphatide qualitativ und quantitativ bestimmt.

I. PHOSPHATIDFETTSÄUREN

1. Normalwerte

Es wurde das Nüchternserum von zehn gesunden, männlichen Personen, die im Alter von 22-40 Jahren waren, untersucht. Nach Angaben von W. SCHRADE et al. (38), die die Normalwerte in zwei Altersgruppen unterteilen (Gruppe I: Personen zwischen 18 und 41 Jahren, Gruppe II: Personen zwischen 46 und 71 Jahren), bestehen nur geringe Änderungen in der Fettsäurezusammensetzung der Phosphatide der beiden Gruppen. Diese Tatsache ist für die Vergleichsmöglichkeit mit den Werten der Cirrhosepatienten von Bedeutung, die sich altersmäßig über beide Gruppen erstrecken. Die Ergebnisse der untersuchten Seren zeigt Tabelle IV. Die Mittelwerte der wichtigsten Fettsäuren ergaben: 30,8 % Palmitinsäure, 15,1 % Stearinsäure, 13,4 % Ölsäure, 22,8 % Linolsäure, 8,9 % Arachidonsäure, 2,1 % Eicosahexaensäure. Die kleineren Fraktionen, die einfach- und dreifach-ungesättigten C 20, vier- und fünffach-ungesättigten C 22 sind in der tabellarischen Zusammenstellung enthalten. Tabelle V zeigt

die von verschiedenen Autoren gaschromatographisch ermittelten Normalwerte, die mit den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit im wesentlichen übereinstimmen. Die etwas unterschiedlichen Werte der C 18:0 und C 18:1 Fettsäuren scheinen durch die Methode der Vortrennung bedingt zu sein. BOWYER et al. (6) haben gezeigt, daß eine saubere Trennung der Phosphatide durch Säulenchromatographie im Gegensatz zur Trennung durch Dünnschichtchromatographie sehr schwierig ist. Als ein weiteres kritisches Moment führt er die Bedingungen für die Methylierung der Fettsäuren der Phosphatide an.

2. Lebercirrhose

TAKAHASHI Y. und TANAKA K. (43), SCHÖN K. et al. (35) haben Veränderungen der Fettsäuren der Leberphosphatide bei der Fettleber beschrieben. Von SCHRADER (36) wurden im Serum spektrophotometrisch die Polyensäuren bei fortgeschrittener Lebercirrhose bestimmt, ferner sind von POLLI E. und RATTI G. (34) und von BILLING B.H. et al. (4) Analysen der Leberfette mit den klassischen Methoden der Fettchemie bekannt. Hier wurden Untersuchungen der Fettsäuren der Phosphatide an den Seren von zehn Lebercirrhotikern, sowie an einem normalen und an zwei Cirrhoseleberpräparaten durchgeführt. Im Serumfettsäuremuster der Cirrhosepatienten fiel eine leichte Erhöhung der Palmitinsäurefraktion auf. Im Gegensatz zu den Normalwerten lagen nur zwei der zehn untersuchten Seren unter 30 %. Als Durchschnittswert wurde 33,6 % errechnet. Der prozentuale Anteil der Stearinsäure blieb gegenüber dem Kontrollwert unverändert. Von den einfach-ungesättigten Fettsäuren zeigte die Ölsäure eine eindeutige Erhöhung. In acht von elf Fällen wurden Werte gefunden, die über 19 % lagen. Als Durchschnittswert ergab sich 19,5 %. Beinahe ebenso klar war die Erniedrigung der Polyensäuren. Die Linolsäureanteile waren bei sieben von elf Patienten unter 18 %, bei einigen sogar unter 13 %. Der Durchschnittswert betrug 16,5 %. Eine prozentual geringfügigere Erniedrigung war bei der Arachidonsäure zu finden. Ein starker Abfall der Linolsäure entsprach in einigen Fällen einem Anstieg der Arachidonsäure, wobei jedoch keine Gesetzmäßigkeit zu erkennen war. In den übrigen aufgeführten Fraktionen waren keine Besonderheiten festzustellen. Das Verhältnis der mehrfach-ungesättigten Fettsäuren der Normalwerte zu denen der Cirrhosewerte betrug 38,5 % zu 29,6 %.

Die Prüfung der Ergebnisse der Palmitin-, Stearin-, Linol- und Ölsäure auf ihre Signifikanz (12, 15) ergab folgendes: Bei 19 Freiheitsgraden liegt bei C 16:0 für $t=1,24$ die Wahrscheinlichkeit für einen zufälligen Unterschied zwischen 20 und 30 % (zweiseitig), bei C 20:4 für $t=0,716$ im Bereich zwi-

schen 40 und 50 % (zweiseitig). C 18:1 entspricht einem t-Wert = 4,869. Für ein $t = 3,883$ ist die Wahrscheinlichkeit für einen zufälligen Unterschied kleiner als 0,1 % (zweiseitig). Bei C 18:2 liegt $t = 3,575$ in dem Wahrscheinlichkeitsbereich zwischen 1 % und 0,1 % (zweiseitig). Der Unterschied dieser beiden Ergebnisse ist wesentlich.

Untersuchungen von Patienten mit chronischer Hepatitis, chronischer Cholangitis und Verschlüßikterus (s. Tab. VIII) zeigten ähnliche Veränderungen der Palmitin-, Stearin-, Öl- und Linolsäurewerte. Wegen der geringen Anzahl von Versuchen kann darüber jedoch nichts Eindeutiges ausgesagt werden. SCHRADE (37) konnte bei fortgeschrittenen Lebercirrhosen bei normalen, bzw. niedrig normalen Gesamtfettsäurewerten, ebenfalls eindeutige absolute, als auch relative Polyensäurevermindierungen nachweisen. ZÖLLNER und WOLFRAM (50) berichten in einer Arbeit über die Zusammensetzung der Cholesterinester bei einigen Leberkrankheiten über eine Verminderung der relativen Konzentrationen des Cholesterin-Linolsäure-Esters, bzw. einer relativen Vermehrung der Monoen-Fettsäuren-Ester. In der prozentualen Zusammensetzung der Fettsäuren der Serumphosphatide bei Cirrhosekranken finden sich Ähnlichkeiten mit der bei Arteriosklerotikern mit Hyperlipoidämie (38).

In Versuchen mit Linolsäuremangeldiät (15, 27, 28, 29, 44, 48) bei Ratten zeigte sich neben einer relativen Abnahme der Linol- und Arachidonsäure ein bemerkenswerter relativer Anstieg der Palmitin- und Ölsäure und ein gleichzeitiger Abfall der Stearinsäure. ALLMANN und GIBSON (1) fanden, daß bei Mäusen die Kapazität der Leber, gesättigte langkettige Fettsäuren zu synthetisieren, durch eine Linolsäuremangeldiät oder eine fettfreie Diät sehr vergrößert wird. Bei der Verabreichung von reinem Methylolinolat oder von Fetten, die Linolat enthielten, zu der Mangeldiät, stellte sich das Linolsäuregleichgewicht in der Leber wieder ein, und die Synthesekapazität für gesättigte Fettsäuren normalisierte sich. Als Ursache für die gesteigerte Aktivität der Enzyme bei der Fettsäuresynthese während des Linolsäuremangels kann vielleicht ein Mangel "freier" langkettiger Fettsäuren (oder Acyl-CoA) im Lebergewebe angesehen werden, oder ein Anstieg der Enzymproteine. Die Veränderungen des Fettsäuremusters der Cirrhosekranken scheinen nicht die Folge einer Mangeldiät zu sein, da sie in ähnlicher Weise bei Patienten mit Hepatitis, Cholangitis und Verschlüßikterus gefunden werden. Eine mögliche Ursache könnte eher eine Anomalie des durch die Cirrhose schwer geschädigten Leberparenchyms in der Aufnahme der angebotenen essentiellen Fettsäuren sein, wofür die relative Verminderung des Linol- und Arachidonsäuregehaltes spricht. Die Ergebnisse der gaschromatographischen Analysen dieser Arbeit, und die der Fettsäureuntersuchungen bei der menschlichen Fettleber (35, 43), sprechen weitgehend für eine Ähnlichkeit der Vorgänge, die in der Ratten- und Mäuseleber bei Linolsäuremangeldiät erforscht wurden. Die auffallende Konstanz des Fettsäurebefundes

des Patienten G.E., der vier Wochen und dann vier Stunden ante finem erhoben wurde, deutet auf eine früh stattfindene, gleichbleibende Schädigung des Leberparenchyms hin. Neue Hinweise zur Klärung der Ursache des stark erniedrigten Linolsäurewertes bei Leberkrankheiten könnte vielleicht eine Verabreichung einer linolsäurereichen Diät bei häufiger Kontrolle der Fettsäurenverteilung liefern. Außerdem findet man bei Leberkrankheiten häufig eine Verminderung der Leber- und Blutgesamtposphatide. Tierexperimentelle Untersuchungen von HARTMANN (19) mit markiertem P^{32} zeigten einen verminderten Einbau von Phosphat in die Blut- und Leberphosphatide, also eine unzureichende Phosphatidsynthese als Begleiterscheinung bei der Fettleber bzw. Cirrhose. Da nach Cholingabe die Umsatzgeschwindigkeit der Leberphosphatide bei Patienten mit Leberkrankheiten steigt, bei Gesunden jedoch nicht, könnte dieser Hinweis auf einen relativen Mangel an lipotropen Substanzen auch Ursache der Verminderung sein. Nach W.A. MÜLLER (30) handelt es sich hierbei nicht um die Förderung der Phosphatidbildung nach vorangegangener Mangelsituation, sondern durch das große Angebot von lipotropen Faktoren um eine Verschiebung der Gleichgewichtslage des Stoffwechsels im Sinne der synthetischen Reaktion.

3. Andere Krankheiten

Tabelle VIII gibt eine Übersicht über die Fettsäurenverteilung in den Serumphosphatiden bei verschiedenen Krankheiten. Wegen der kleinen Anzahl der untersuchten Fälle können diese Werte nur als erste Orientierung betrachtet werden.

Auf die Ähnlichkeit der Zusammensetzung bei chron. Hepatitis, chron. Cholangitis und Verschlußikterus mit der bei Lebercirrhosen wurde bereits oben hingewiesen.

Die Befunde von zwei Patienten mit familiärer Hypercholesterinämie mit fast normalen Werten unterscheiden sich von denen von SCHRADE (50), dessen gaschromatographische Analysen bei "idiopathischer Hyperlipidämie" eine statistisch deutliche relative Vermehrung der gesättigten (vor allem der Palmitinsäure) und einfach-ungesättigten Fettsäuren bei einer relativen Abnahme der Linol- und Arachidonsäure ergeben.

Das Fettsäuremuster der drei Patienten mit Arteriosklerose zeigt gegenüber den bisher bekannten Angaben (38) keine grundsätzlichen Abweichungen. Es wurde hier auf eine Einteilung in Arteriosklerose mit Hyper- oder Normolipoidämie verzichtet. Erwähnenswerte Veränderungen zeigen die Befunde bei der Nephrose, beim Hypernephrom und bei Leukämie. Während die gesättigten Fettsäuren,

die Palmitin- und Stearinsäure, den Kontrollwerten entsprechen, findet sich bei der Nephrose eine Erhöhung der Ölsäure auf 25,8 % (Kontrollwert 13,4 %) und eine ebenso eindeutige Erniedrigung der Linolsäure auf 14,1 % (Kontrollwert 22,8 %). Die Arachidonsäure zeigt eine geringe Erhöhung. Beim Hypernephrom besteht ebenfalls eine Tendenz zur Erhöhung der einfach-ungesättigten C18 Fettsäure und eine deutliche Verminderung der Linolsäure (15,1 - 16,0 %). Ein bemerkenswerter Befund wurde bei der Leukämie erhoben. So fand sich, bei im Normbereich liegender Stearin-, Öl- und Linolsäure, ein Arachidonsäureanteil von 16,4 %, der höchste Wert, der bei diesen Untersuchungen für C_{20:4} ermittelt wurde. Der Gehalt an Palmitinsäure betrug 22,0 %.

II. PHOSPHATIDFRAKTIONEN

1. Normalwerte

Neben der qualitativen und quantitativen Bestimmung der Blut- und Leberphosphatide bei gesunden und leberkranken Personen, wurde noch die dünnschichtchromatographische Trennung einiger Seren in die Fraktionen Lysolecithin, Sphingomyelin, Lecithin und Kephalin von Versuchspersonen mit Normalwerten, von Leberkranken und von Säuglingen nach der von HABERMANN et al. (17) angegebenen Methode durchgeführt.

Die Einzelwerte stimmen mit den von SCHOLDERER (36) und anderen Autoren (11, 17, 26, 31, 33, 46, 49) angegebenen Normalwerten überein. Die Relativwerte für Sphingomyelin liegen bei allen anderen etwas höher, die des Lecithin zeigen, ebenso wie die von SCHOLDERER ermittelten Lecithinwerte (74,8 %), eine deutliche Erhöhung gegenüber den säulenchromatographisch erhaltenen Ergebnissen. Die Abweichungen des Kephalingehaltes, der 1,95 % bis 9,75 % beträgt, könnten durch eine Verunreinigung der Kephalinfraktion mit Lecithin erklärt werden. Diese Annahme liegt insbesondere bei Serum M. nahe, wo bei einem hohen Kephalinwert Lecithin relativ vermindert auftritt.

2. Serumphosphatidfraktionen bei Lebercirrhose

Veränderungen des Phosphatidmusters bei Leberkranken (33, 35) konnten bei den drei untersuchten Seren von Patienten mit Lebercirrhose in derselben Weise beobachtet werden (eine Senkung des Lysolecithins bei einer Erhöhung des Lecithinanteils auf etwa 80 %), wie die von PHILIPPS (33) beschriebene Er-

niedrigung des Sphingomyelins. Das umgekehrt proportionale Verhältnis zwischen dem Lysolecithin und dem direkten Bilirubin, d.h. Abnahme des Esters bei Zunahme an direktem Bilirubin, zeigte der Vergleich der Seren der Patienten A.M. und G.E.

3. Leberphosphatide

Angaben über die Auftrennung der Phosphatide aus Lebergewebe konnten nicht gefunden werden. Es liegen lediglich Bestimmungen der Gesamtphosphatide von gesunden, Cirrhose- und Fettlebern (4, 34) vor. In dieser Arbeit wurden in einem Fall normales und in zwei Fällen cirrhotisch verändertes Lebergewebe untersucht. Die quantitative Zusammensetzung ist von der des Serums völlig verschieden. Bei einem Lysolecithinanteil von 2,4 %, Sphingomyelin von 8,84 % und Lecithin von 50,6 %, fällt die hohe Kephalinbeteiligung von 38,5 % in der gesunden Leber auf. Das Ergebnis dieses einzigen Versuches darf jedoch nur mit Vorsicht gewertet werden.

Die Zusammensetzung der Phosphatide der beiden Cirrhoselebern zeigt einen gut übereinstimmenden, parallelen Verlauf der Veränderungen. Bei einer starken Abnahme der Gesamtphosphatide findet sich hier, ebenso wie beim Serum, eine relative Mehrbeteiligung des Lecithins. Lysolecithin und Sphingomyelin sind ebenfalls erhöht, während der Kephalinanteil in beiden Untersuchungen um 20 % abfiel.

Bei Patient G.E., bei dem laut histologischem Befund neben einer Cirrhose noch ein Lebercarcinom vorlag, ergab die Analyse des carcinomatösen Teils ähnliche Werte wie die des cirrhotischen.

4. Serumphosphatidfraktionen bei Neugeborenen

Bei der Untersuchung von Nabelvenenblut fanden sich neben sehr reduzierten Gesamtphosphatidwerten wesentliche Veränderungen des Phosphatidmusters gegenüber dem des Erwachsenen. Der Lysolecithingehalt betrug dort im Mittelwert 7,1 %, während bei den fünf Neugeborenenseren die Werte von 15,1 % bis 30,8 % deutlich darüber lagen. Dieser Erhöhung entsprach eine im gleichen Maße verminderte Lecithinfraktion. Bei nur leicht vermehrter Sphingomyelinfraktion war Kephalin mit 7,9 % bis 20,2 % im Vergleich zum mittleren Erwachsenennormalwert von 2,2 % sehr stark erhöht. Die Gegenüberstellung der Erwachsenen- und Neugeborenennormalwerte zeigt eine eindeutige Vermehrung von Lysolecithin und Kephalin auf Kosten des Lecithins (Tab.XI).

Dieselben Verhältnisse wurden im Phosphatidmuster einiger Organe (Leber, Nie-

re. Uterus und Ovarien) der jugendlichen Ratte (3) vorgefunden. Hier findet in der postnatalen Zeit eine allmähliche Abnahme des hohen Kephalinwertes und der anderen Phosphatide bei gleichzeitigem Anstieg des Lecithins statt. Untersuchungen der Phosphatide bei schwangeren Frauen während der letzten Schwangerschaftsmonate (45) ergaben bei einem Gesamtposphatidwert von 328 mg% (Normalwert 219 mg%) einen Abfall von Lysolecithin von 5,9 % auf 1,3 %, bei leichter Zunahme des Lecithin- und Kephalinanteils.

Die erhaltenen Befunde sind vorerst noch ausschließlich von pathophysiologischem Interesse.

Fraktion	Lösungsmittel	Vol.(ml)	eluierte Lipoid-Komponenten
I	Chloroform	120	Cholesterin Cholesterinester Glyceride freie Fettsäuren
II	Methanol	100	Phosphatide
III	Methanol	100	eventuell zurückgebliebene Phosphatide

TABELLE I

Schema des Elutionsvorganges

Lipoidextrakt mg% Gesamt. -Phosph.	Methanolfraktion (II) mg% Gesamt. -Phosph.	% Phosphatide in Fraktion II
250,0	241,0	96,5
162,0	161,0	99,5
195,0	183,0	93,6
250,0	246,0	96,4
216,0	213,0	98,7
232,0	240,5	103,7
197,0	193,0	98,0
255,0	248,0	97,2
206,0	214,0	103,5
169,0	173,5	102,5
205,0	203,0	99,4
121,5	121,0	99,5
177,5	175,0	98,8
287,0	278,0	97,0
159,0	158,5	99,6
193,0	186,0	96,4
182,0	178,0	98,0
288,0	290,0	101,0
307,0	310,0	101,0
163,0	159,0	97,3
266,3	258,2	97,0
166,0	162,8	104,0
239,5	235,0	98,5
138,0	132,0	95,5
436,0	440,0	100,1
378,0	363,0	96,5
133,0	138,0	103,7
173,5	171,0	98,6
192,5	197,0	102,5
417,0	409,0	98,0
356,0	368,0	103,1
262,0	256,0	98,0
322,0	321,0	99,7
260,1	259,9	99,5
171,5	163,5	95,6
273,5	267,0	97,8
420,0	427,0	101,7
493,0	504,0	102,0
160,0	169,0	105,6
169,0	168,0	99,7
195,5	192,0	98,3
216,0	230,0	106,5
240,0	242,0	100,5
M: 239,3	238,1	99,5

TABELLE II

Gesamtphosphatide des Lipoidextraktes und der Methanolfraktion

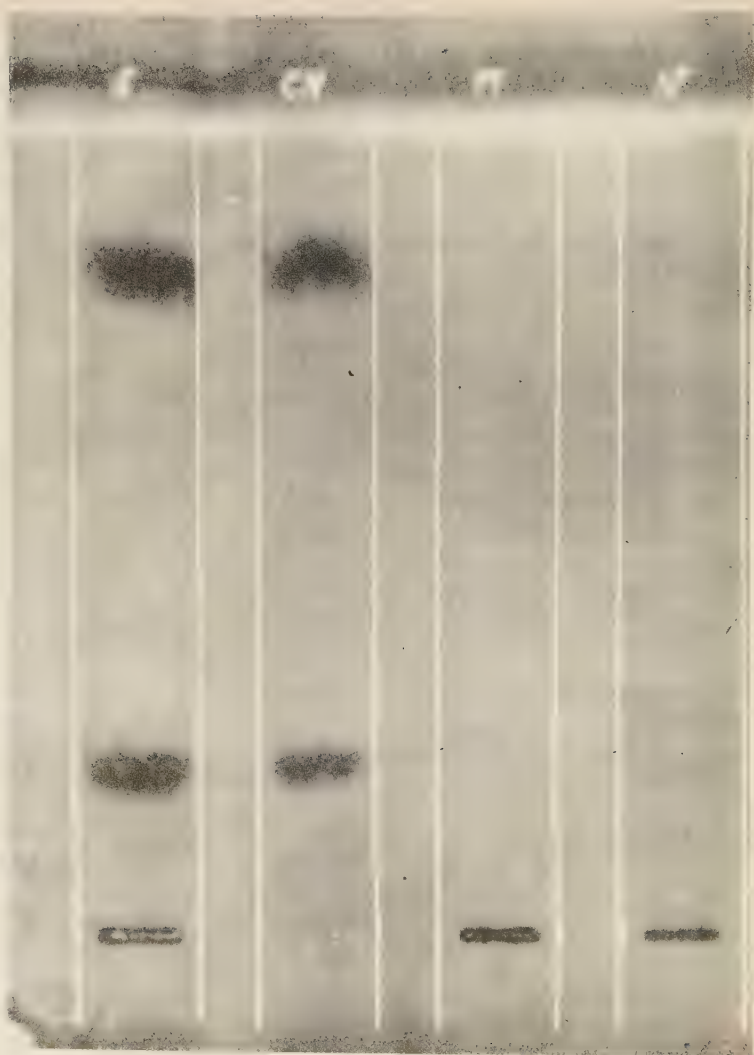


ABBILDUNG 1

Dünnschichtchromatographischer Nachweis der säulenchromatographischen Trennung der Phosphatide aus dem Lipoidextrakt

S= Serum

CH= Fraktion I

M= Fraktion II

N= Fraktion III

Extinktionswerte für Lecithin (veraschter Leerwert abgezogen)

Zentrifuge (5 ccm)	Säule (10 ccm, 5 ccm, 10 ccm)	% (Säulenextinktions- werte = 100 %)
1) 0,257 (4/5) 0,321 (5/5)	1. 0,242 2. 0,056 = 0,297 3. 0,009	108,1
2) 0,179 (4/5) 0,224	1. 0,238 2. 0,021 = 0,266 3. 0,007	84,2
3) 0,162 (4/5) 0,202	1. 0,207 2. 0,013 = 0,228 3. 0,008	88,5
4) 0,168 (4/5) 0,210	1. 0,225 2. 0,007 = 0,232 3. -	90,5
(5 ccm, 5 ccm)	(10 ccm, 5 ccm, 10 ccm)	
1) 0,100 (4/5) 0,125 = 0,168 0,043 (Rest)	1. 0,180 2. 0,014 = 0,201 3. 0,007	88,5
2) 0,210 (4/5) 0,252 = 0,310 0,058	1. 0,289 2. 0,026 = 0,330 3. 0,015	93,9
3) 0,216 (4/5) 0,269 = 0,349 0,080	1. 0,293 2. 0,031 = 0,351 3. 0,027	99,4

TABELLE III

Vergleichende Phosphorelution aus der Lecithinfraktion mit Hilfe der Zentrifuge und Säule

Versuchs- person:	Alter	C _{16:0}	16:1	18:0	18:1	18:2	18:3	20:0	20:1	20:2	20:3	20:4	20:5	22:1	22:2	22:3	22:4	22:5	22:6
1. B.P. ♂	22 J.	26,2	0,8	13,7	14,8	24,6	-	-	0,9	0,6	3,4	9,4	-	1,3	-	0,8	0,8	0,9	1,7
2. St.M. ♂	24 J.	34,2	-	14,5	15,8	20,7	-	0,2	0,2	-	1,7	9,3	-	-	0,5	0,4	0,5	0,4	0,6
3. W.R. ♂	23 J.	27,5	-	13,8	14,9	28,9	-	0,5	0,3	-	1,7	7,8	-	0,5	-	-	1,2	0,8	2,1
4. M.F. ♂	28 J.	34,9	-	14,9	10,5	25,8	-	1,4	0,2	0,4	1,4	6,5	-	-	1,0	-	0,7	0,6	1,7
5. L.G. ♂	25 J.	38,7	-	15,8	10,8	15,5	-	-	0,2	0,2	3,3	10,0	-	-	0,9	-	1,2	1,0	2,2
6. A.H. ♂	26 J.	26,5	-	16,3	15,6	23,0	-	0,4	0,3	0,2	2,2	10,6	-	0,6	-	0,8	1,4	-	2,2
7. R.J. ♂	24 J.	25,7	-	15,1	11,1	24,0	-	0,8	-	-	2,4	12,3	-	1,8	-	-	1,9	1,7	3,2
8. E.J. ♂	41 J.	28,2	1,5	16,0	13,6	24,2	-	-	-	-	4,2	9,2	-	-	-	-	-	-	-
9. W.G. ♂	29 J.	38,7	-	13,7	12,8	21,0	1,2	-	0,5	-	1,7	5,2	-	0,7	0,5	-	0,5	2,1	1,2
11. R.A. ♂	37 J.	27,9	-	16,9	13,6	20,2	-	-	0,8	0,8	4,0	9,0	-	1,8	0,4	0,2	-	1,0	3,2
M:		30,8	-	15,1	13,3	22,8	-	-	0,4	-	2,6	8,9	-	-	-	-	1,0	1,1	2,1
S:		+5,2	-	+1,1	+2,0	+3,6	-	-	+0,3	-	+1,0	+2,2	-	-	-	-	+0,5	+0,5	+0,7
S:		+1,6	-	+0,4	+0,6	+1,1	-	-	+0,1	-	+0,3	+0,6	-	-	-	-	+0,2	+0,2	+0,2

TABELLE IV

Gaschromatographische Analyse der Fettsäuren der Serumphosphatide von gesunden Versuchspersonen

+ Die Fettsäuren sind nach DOLE et al. (8) gekennzeichnet, wobei die Zahl der C-Atome vor, die Anzahl der Doppelbindungen hinter dem Doppelpunkt angegeben sind.

Autor	Zahl der Vp.	C _{16:0}	18:0	18:1	18:2	18:3	20:0	20:1	20:2	20:3	20:4	20:5	22:4	22:5	22:6
Schrade (38)	16	30,7 +1,0	11,9 +0,6	15,0 +0,6	21,5 +1,0	0,8 +0,2									22,6
Gruppe I											8,8 +0,5	2,0 +0,4			3,0 +0,2
Gruppe II	15	30,8 +1,0	12,0 +0,7	15,1 +0,4	20,8 +0,5	1,2 +0,0									2,3 +0,2
Schrade (39)	15	31,0 +1,2	12,5 +0,6	15,0 +0,8	21,2 +0,8	0,9 +0,2									2,8 +0,3
Hallgren (18)	7	27,7	11,9	14,3	20,4	2,4									4,8
Fuhrmann (14)	4	28,3	14,0	13,8	22,4	0,7									1,2
Dole (8)	6	33,1 +3,8	12,8 +3,3	18,6 +4,7	16,0 +6,5	0,5 +0,6	0,3 +0,4								3,2
Lawrie (23)	16	26,7 +7,3	10,3 +3,4	16,7 +3,6	17,2 +5,0	0,6 +1,0	1,5 +0,5	0,8 +1,7	1,1 +2,8	2,6 +2,6	6,2 +3,0	1,1 +1,8			
Lindgreen (24)	7	33,2	14,3	11,9	21,9									2,0	
James (21)	12	26,7	13,3	20,8	18,8										
Böhle (5)	40	31,8	12,6	15,2	20,4									4,8	
Czegledi-Janko (7)	1	42,4	8,2	17,4	18,6										
eigene Werte	10	30,8 +1,6	15,1 +0,4	13,4 +0,6	22,8 +1,2									1,0 +0,2	1,1 +0,2
							0,4 +0,1			2,6 +0,3	8,9 +0,6				2,1 +0,2

TABELLE V

Normalwerte der Fettsäurezusammensetzung der Serumphosphatide aus der Literatur

Patient:	Alter:	Gesamt-Ph. in mg%	C _{16:0}	18:0	18:1	18:2	20:0	20:1	20:2	20:3	20:4	20:5	22:1	22:2	22:3	22:4	22:5	22:6
1. M.G. ♂	41 J.	193,0	27,9	16,1	21,4	22,3	-	0,3	0,3	2,1	6,9	-	0,4	-	-	-	2,3	-
2. F.L. ♂	63 J.	121,5	38,5	14,9	16,9	13,6	-	1,3	-	3,9	7,1	-	0,5	0,5	-	0,6	1,3	0,8
3. G.E.1 ♂	39 J.	205,0	32,6	13,7	19,9	21,1	0,4	0,2	0,4	1,3	4,6	0,6	0,2	0,1	0,1	0,5	0,4	0,7
4 Wochen später																		
4. G.E.2 ♂	4 Std. ante finem	159,0	34,5	11,7	19,7	19,6	0,4	0,3	-	1,3	6,4	-	2,3	-	-	-	0,6	-
5. Au.Th. ♀	56 J.	287,0	33,6	15,2	14,9	17,4	-	5,0	-	2,8	6,0	0,6	-	-	1,0	0,7	2,9	-
6. Th.E. ♂	35 J.	182,0	32,5	14,9	22,7	17,4	0,3	0,1	1,1	1,9	6,3	0,3	0,3	0,3	0,2	0,6	0,4	0,9
7. L.F. ♂	25 J.	266,0	25,5	20,0	19,3	17,4	0,4	0,6	0,8	0,3	6,9	-	0,5	-	-	1,1	1,1	3,4
8. K.J. ♂	74 J.	159,0	34,6	13,6	12,6	19,3	-	0,2	0,2	3,5	9,1	-	0,4	1,0	-	1,4	0,7	3,2
9. U.G. ♂	63 J.	159,0	34,6	10,2	23,5	8,0	-	-	-	2,3	10,0	-	1,6	-	1,5	1,1	5,0	-
10. Sp.G. ♂	63 J.	177,5	31,1	13,7	23,8	12,2	-	0,3	-	1,9	9,4	-	0,5	-	-	0,7	0,4	1,3
11. S.J. ♂	56 J.	288,0	43,8	12,6	19,9	12,7	-	0,3	0,5	2,8	4,7	-	0,2	0,3	0,4	0,3	0,4	0,4
M:																		
			33,6	14,3	19,5	16,5	-	0,8	-	2,4	7,0	-	0,7	-	-	0,8	1,4	1,5
s:			+4,9	+2,6	+3,5	+4,3	-	+1,5	-	+0,8	+1,8	-	+0,7	-	-	+0,3	+1,4	+1,2
s̄:			-1,5	-0,8	-1,1	-1,3	-	+0,5	-	+0,2	+0,5	-	+0,2	-	-	+0,1	+0,4	+0,5

TABELLE VI

Fettsäurenzusammensetzung der Serumphosphatide bei Lebercirrhose

C _{16:0}	16:1	18:0	18:1	18:2	20:0	20:1	20:2	20:3	20:4	20:5	22:1	22:2	22:3	22:4	22:5	22:6
Takahashi (43)	34,2	3,0	23,6	16,3	16,9	-----8,3-----										
S. eigener Wert:	22,0	1,0	19,6	12,6	15,0	0,7	-	0,2	2,2	15,7	-	1,2	-	0,5	0,6	1,5
																7,1

Normalwerte der Fettsäurezusammensetzung der Leberphosphatide

Fettlebern:

Takahashi (43)	32,7	6,2	16,6	25,1	13,5	-----3,8-----										
Schön (35)	27,8	-	14,7	18,3	17,7	10,9										

Lebercirrhosen:

1. F. L.	25,2	-	21,2	14,4	19,8	0,8	0,2	0,2	1,0	11,8	-	-	0,5	0,6	0,4	0,8	3,0
2. G. E.	30,1	2,9	12,6	16,1	13,4	0,6	0,3	0,2	1,7	14,4	-	0,8	0,8	0,8	1,0	1,2	3,7

Carcinomatöser Lebertreil:

G. E.	24,3	8,4	15,1	25,3	12,4	0,8	0,6	1,0	0,8	5,7	1,4	0,8	-	0,7	0,9	1,7	-
-------	------	-----	------	------	------	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	---	-----	-----	-----	---

Fettsäurezusammensetzung der Leberphosphatide bei Lebercirrhose

TABELLE VII

Normalwerte der Leberphosphatide und Fettsäurenverteilung bei Lebercirrhose

Diagnose:	Patient:	C16:0	16:1	18:0	18:1	18:2	18:3	20:0	20:1	20:2	20:3	20:4	20:5	22:1	22:2	22:3	22:4	22:5	22:6
Chron. Hepatitis	B.O. W.K.	25,1 32,5	- -	21,0 14,0	14,6 16,4	14,5 16,5	- -	- -	- -	1,0 1,7	5,1 2,3	11,2 9,2	- -	1,5 -	1,5 0,7	- -	0,8 2,1	2,3 1,1	1,2 3,5
Chron. Cholangitis	V.M. F.M.	31,4 29,8	- -	12,1 15,1	20,2 16,0	14,5 19,9	- -	0,6 0,6	0,6 0,2	0,6 1,1	4,5 2,1	8,5 10,0	0,7 0,2	- 1,2	0,3 -	0,3 0,8	0,6 0,7	3,4 0,6	1,1 1,5
Verschluß- ikterus	K.K. N.R.	39,5 34,0	2,6 2,1	13,7 12,4	17,5 18,6	14,9 17,0	1,1 -	0,6 0,8	0,2 0,2	0,1 0,4	1,2 1,3	5,0 9,0	- -	0,2 1,3	- 0,3	0,2 -	0,6 -	0,2 1,6	1,3 0,7
Hypercholesterinämie	S.K. S.W.	29,0 31,3	- 1,9	15,6 14,5	10,4 13,2	16,9 20,2	3,1 2,1	0,5 0,1	0,5 -	0,6 0,4	4,5 2,8	9,6 9,9	1,5 -	- 0,5	- -	0,6 0,6	0,2 0,7	1,2 0,4	5,6 1,0
Pankreatitis	F.W.	37,4	1,3	12,4	16,5	18,2	0,8	0,2	0,5	0,3	2,4	5,8	0,2	0,4	0,3	0,3	0,7	0,3	2,0
Nephrose	H.P.	28,5	-	16,4	25,8	14,1	-	0,5	0,4	0,4	3,4	10,4	-	-	-	-	-	-	-
Glomerulo- nephritis	B.K.	30,1	1,6	16,0	14,6	18,3	-	0,8	0,6	0,7	2,4	7,6	-	1,1	0,8	-	1,5	1,0	2,7
Hyper- nephrom	D.F. B.K.	40,3 27,1	- -	13,5 18,4	16,2 19,8	15,1 16,0	- -	0,1 0,3	0,4 0,5	0,3 0,2	2,2 2,0	6,8 8,4	0,9 1,8	0,7 -	- 0,2	0,4 0,3	0,4 0,7	1,2 4,0	1,3 -
Arterio- sklerose	M.L. Sch.W.	23,0 38,8	- -	14,0 12,1	18,1 13,6	16,3 16,7	1,9 1,3	- 0,2	0,9 0,2	- 0,1	7,0 2,0	9,0 10,1	3,7 -	1,8 0,6	1,6 -	1,7 0,5	0,7 1,1	- 0,6	1,9
Pleuracar- cinose	M.M.	33,1	-	17,2	12,0	20,0	1,3	0,5	0,3	-	2,8	9,7	-	0,7	-	1,0	2,6	0,8	0,3
Leukämie	Pf.J.	22,0	-	14,9	15,9	20,0	-	-	0,4	0,5	3,1	16,4	-	1,0	-	-	1,5	0,8	3,5
Polycythämie	P.J.	24,2	-	17,6	15,2	19,9	-	1,1	0,2	0,3	4,9	9,9	-	1,6	-	-	-	1,7	3,2
Paraprotein- ämie	P.M.	39,9	-	12,9	14,5	19,9	0,8	0,2	0,1	0,3	2,6	6,7	0,3	0,4	-	0,1	0,5	0,4	1,1
Lungeninfarkt	W.E.	27,8	-	22,3	15,5	14,3	-	-	0,9	-	3,1	10,3	1,1	1,2	-	-	-	1,8	1,5
Bronchial- carcinom	Sch.G.	21,8	-	16,4	15,4	20,3	-	-	0,8	0,5	3,0	9,1	1,5	-	1,9	0,9	-	4,4	3,9

TABELLE VIII

Fettsäurezusammensetzung der Serumphosphatide bei verschiedenen Krankheiten

Versuchsperson:	Ges.-Phosph. mg%	Lysolecithin % mg%	Spingomyelin % mg%	Lecithin % mg%	Kephalin % mg%
1. M.					
Billroth II, Anorexie	240,0	2,7 6,5	17,9 42,9	69,3 166,5	9,7 23,4
2. Sch. K. Hypertonus	249,0	7,3 18,2	11,7 29,1	79,0 197,0	1,9 4,8
3. N. K. Pneumonie, Anfälle ungeklärter Art	199,0	5,9 11,7	12,7 25,3	76,4 152,0	5,0 9,9
4. Ö. W. Bronchitis	171,0	9,8 16,7	13,7 23,4	70,5 120,5	5,7 9,7
5. W. J.	283,0	12,8 36,2	14,1 39,9	71,0 200,5	6,5 18,4
M:		7,7 17,9	14,0 32,1	73,2 167,3	5,8 13,3
s:		+3,8 +10,0	+2,3 +8,8	+4,2 +105,0	+2,8 +7,5
$\bar{s}$:		+1,7 +4,5	+1,0 +3,9	+1,9 +47,1	+1,3 +3,3
Scholderer (36)		7,0 16,0	16,0 35,0	74,8 169,5	2,2 5,0
$\bar{s}$:		+0,5 +1,4	+0,5 +1,8	+1,0 +11,2	+0,3 +0,8
Zöllner-Kirsch (49)		7,7 -	16,8 -	66,8 -	4,1 -

TABELLE IX

Normalwerte der Serumphosphatidfraktionen

Patient:	Ges.-Phosph. mg%	Lysolecithin %	Sphingomyelin %	Lecithin %	Kephalin %	dir. Bilirubin
1. W. starke Leberzell- degeneration, beginnender Leberumbau	382,2	3,6	16,2	77,2	3,0	0,86
2. A.M. Lebercirrhose, Diabetes mellitus	312,0	8,1	7,7	81,5	2,7	1,03
3. G.E.	159,0	4,8	7,5	83,0	4,8	3,15

TABELLE X

Serumphosphatidfraktionen bei Lebercirrhose

Patient:	Ges.-Phosph. mg%	Lysolecithin %	mg%	Sphingomyelin %	mg%	Lecithin %	mg%	Kephalin %	mg%	dir. Bilirubin
1. A. B. Leber, normal	1995,0	2,4	47,9	8,8	176,0	50,0	1020,0	38,5	768,0	
2. F. L. Lebercirrhose	1670,0	8,3	138,6	13,5	226,3	60,5	1010,3	17,9	298,9	1,83
3. G. E. cirrhotisches Lebergewebe	1590,0	6,2	98,5	14,5	230,5	61,1	980,0	18,1	281,0	3,15
carcinomatöses Lebergewebe	1780,0	4,2	74,4	18,0	320,7	57,7	1027,1	19,9	354,2	
4. D. F. Hypernephrom	1070,0	8,7	87,7	9,6	102,7	63,8	682,6	17,9	191,5	

TABELLE XI

Leberphosphatidfractionen beim Gesunden, bei Lebercirrhose und Hypernephrom

Versuchsperson:	Ges. -Phosph. mg%	Lysolecithin % mg%	Sphingomyelin % mg%	Lecithin % mg%	Kephalin % mg%
1. W.J.	98,0	23,4 22,9	20,7 20,3	41,4 40,6	14,7 14,1
2. H.K.	109,6	30,8 33,8	18,2 19,9	35,9 39,3	15,1 16,5
3. B.	99,0	16,5 16,0	15,7 15,6	60,0 59,4	7,9 7,8
4. W.E.	139,0	15,1 21,0	21,2 29,5	53,0 73,7	10,6 14,7
5. G.M.	106,0	17,0 18,0	18,7 19,8	44,2 46,8	20,2 21,4
Normalwerte Erwachsene (n=11)		7,1 -	16,0 -	74,8 -	2,2 -

TABELLE XII

Phosphatidfraktionen des Neugeborenen-serums

E. ZUSAMMENFASSUNG

In den vorliegenden Untersuchungen wurde gaschromatographisch das Serumfettsäuremuster der Phosphatide von zehn Gesunden, zehn Leberkranken und in Einzelfällen bei verschiedenen anderen Krankheiten bestimmt. Ferner wurden die Serumphosphatide von Gesunden, Leberkranken und Neugeborenen, sowie die Leberphosphatide von Leberkranken dünn-schichtchromatographisch in die Fraktionen Lysolecithin, Sphingomyelin, Lecithin und Kephalin aufgetrennt und mit den Angaben anderer Autoren verglichen.

1. Die Analyse der Seren gesunder Versuchspersonen ergab eine hohe Beteiligung der gesättigten Fettsäuren, vor allem der Palmitin- (30,8 %) und der Stearinsäure (15,0 %). Bei den einfach- und mehrfach ungesättigten Fettsäuren standen die Öl- (13,3 %) und die Linolsäure (22,8 %) im Vordergrund.
2. Die Phosphatide der Seren bei Patienten mit Leberkrankheiten zeigten neben leicht vermehrter Palmitinsäure einen deutlichen Anstieg der Ölsäure bei ebenso eindeutiger Verminderung des Linol- und Arachidonsäureanteils. Dasselbe Verhalten konnte in weniger ausgeprägter Form in der Fettsäurenzusammensetzung der Leberphosphatide beobachtet werden.
3. Die Serumfettsäurenuntersuchung bei verschiedenen Krankheiten ergab bemerkenswerte Befunde bei der Nephrose, beim Hypernephrom und bei der Leukämie. Die Nephrose zeigt eine Erhöhung der Ölsäure bei einer ebenso deutlichen Erniedrigung der Linolsäure. Ein ähnliches Verhalten findet sich beim Hypernephrom. Bei sonst im Normalbereich liegenden Fettsäurenwerten wurde bei der Leukämie ein Arachidonsäureanteil von 16,4 % festgestellt.
4. Die Ergebnisse der Auftrennung der Serumphosphatide von Gesunden und Leberkranken in die einzelnen Fraktionen stimmten mit den Werten in der Literatur gut überein. Gegenüber den Normalwerten konnte auch hier bei der Lebercirrhose eine Erhöhung von Lecithin auf Kosten des Sphingomyelin und Lysolecithin festgestellt werden.
5. Bei den Normalwerten der Leberphosphatidfraktionen fiel eine starke Kephalinbeteiligung bei niederen Werten der übrigen Fraktionen auf. Die cirrhotisch veränderte Leber zeigte einen genau gegensätzlichen Befund,

nämlich ein sehr vermindertes Kephalin bei einer Erhöhung von Lysolecithin, Sphingomyelin und Lecithin.

6. Die Untersuchungen des Nabelschnurblutes ergaben im Vergleich mit den Normalwerten bei Erwachsenen eine vermehrte Lysolecithin-, Sphingomyelin- und vor allem Kephalinfraktion bei sehr erniedrigtem Lecithin.

F. LITERATURVERZEICHNIS

- 1) Allmann, D. W. and Gibson, D. M. :
Fatty acid synthesis during early linoleic deficiency in the mouse.
J. Lipid Res. 6, Nr. 1, 51 (1965)
- 2) Bartlett, G. R. : Phosphorus Essay in column chromatography.
J. Biol. Chem. 234, 466 (1959)
- 3) Biezenski, J. J. , Spaet, T. H. and Gordon, A. L. :
Phospholipid patterns in subcellular fractions of adult- and immature rat organs.
Biochim. Biophys. Acta 70, 75 (1963)
- 4) Billing, B. H. , Haslam, R. M. , Hein, D. E. , Conlon, H. J. , Hamilton, D. L. , Mindrum, G. M. and Schiff, L. :
Serum and liver lipids in patients with and without liver disease.
J. Lab. Clin. Med. 45, 365 (1955)
- 5) Böhle, E. und Harmuth, E. :
Die Fettsäurezusammensetzung der Lipidfraktionen des Blutserums bei verschiedenen Hyperlipidämien.
Zschr. klin. Chem. 1, 83 (1963)
- 6) Bowyer, D. E. , Leat, W. M. F. , Howard, A. N. and Gresham, G. A. :
The determination of the fatty acid composition of serum lipids separated by thinlayer chromatography, and a comparison with column chromatography.
Biochim. Biophys. Acta 70, 423 (1963)
- 7) Czeplédi-Jankó, G. :
Mikropräparative Trennung der Lipidklassen von Milch und Blutserum.
Zschr. klin. Chem. 3, 14 (1965)
- 8) Dole, V. P. , James, A. T. , Webb, J. P. M. , Rizack, A. M. and Sturman, M. F. :
The fatty acid patterns of plasma lipids during alimentary Lipämie.
J. Clin. Invest. 38, 1544 (1959)

- 9) Eberhagen, D.: Moderne analytische Methoden in der Lebensmittelchemie und der biologischen Chemie.
Zschr. Anal. Chem. 212, 230 (1965)
- 10) Eberhagen, D.: Gaschromatographische Untersuchung.
In: Untersuchung und Bestimmung der Lipoide im Blut,
hrsg. von N. Zöllner und D. Eberhagen, S. 183,
Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg, 1965
- 11) Etienne, J. et Polonowski, J.:
Evolution des lipides en cours de l'incubation du serum III:
Etude de phospholipides.
Bull. Soc. Chim. Biol. (Paris) 42, 857 (1960)
- 12) Fisher, R. A. and Yates, F.:
Statistical tables for biological, agricultural and medical
research.
Oliver and Boyd, London 1949, 32
- 13) Flint, A., jr.: Experimental research into a new excretory function of the
liver; consisting in the removal of cholesterine in the blood,
and its discharge from the body in the form of stercorine.
Amer. J. Science 44, 305 (1862)
- 14) Fuhrmann, W.: Untersuchungen über die Fettsäuren der Plasmalipide bei
erbbedingter Kohlenhydratsensitiver Hyperlipidämie.
Dtsch. med. Wschr. 27, 1293 (1964)
- 15) Gellhorn, A., Benjamin, W. and Wagner, M.:
The in vitro incorporation of acetate-1-C¹⁴ into individual
fatty acids of adipose tissue from young and old rats.
J. Lipid Res. 3, 314 (1962)
- 16) Gjone, E., Berry, J. F. and Turner, A. D.:
The isolation and identification of lecithin from lipid
extracts of normal and human serum.
J. Lipid Res. 1, 66 (1959)
- 17) Habermann, E., Bandtlow, G. und Krusche, B.:
Bestimmungen von Plasmaphospholipoiden nach Dünnschicht-
chromatographie.
Klin. Wschr. 39, 816 (1961)

- 18) Hallgren, B., Stenhagen, S., Svanborg, A. and Svennerholm, L.:
 Gaschromatographic analysis of the fatty acid composition
 of the plasma lipids in normal and diabetic subjects.
J. Clin. Invest. 39, 1424 (1960)
- 19) Hartmann, F.: Die Leberverfettung und das Wesen des lipotropen Effek-
 tes.
 In: Wildhirt: Fortschritte der Gastroenterologie, Urban
 & Schwarzenberg 1960, 116
- 20) Hirsch, J. and Ahrens, E. H., jr.:
 The separation of complex lipid mixtures by the use of
 silic acid chromatography.
J. Biol. Chem. 233, 311 (1958)
- 21) James, A. T., Lovelock, J. E., Webb, J. and Trotter, W. R.:
 The fatty acids of the blood in coronaryartery disease.
Lancet 1, 705 (1957)
- 22) James, A. T. and Martin, A. J. P.:
 Gas-liquid partition chromatography: the separation and
 micro-estimation of volatile fatty acids from formic acid
 to dodecanoic acid.
Biochem. J. 50, 679 (1952)
- 23) Lawrie, T. D. V., McAlpine, S. G., Pirrie, R. and Rifkind, B. M.:
 The fatty acid patterns of human serum in health.
Clin. Sc. 20, 255 (1961)
- 24) Lindgren, F. T., Nichols, A. V. and Wills, R. D.:
 Fatty acid distributions in serum lipids and serum lipo-
 proteins.
Amer. J. Clin. Nutrition 9, 13 (1961)
- 25) Man, E. B., Kartin, B. H., Durlacher, S. H. and Peters, J. P.:
 The lipids of serum and liver in patients with hepatic
 disease.
J. Clin. Invest. 24, 623 (1945)
- 26) Marinetti, G. V., Albrecht, M., Ford, T. and Stotz, E.:
 Analysis of human plasma phosphatides by paper
 chromatography.
Biochim. Biophys. Acta 36, 4 (1959)

- 27) Mohrhauer, H. and Holman, R. T.:
The effect of dose level of essential fatty acids upon fatty acid composition of the rat liver.
J. Lipid Res. 4, 151 (1963)
- 28) Mohrhauer, H. and Holman, R. T.:
The effect of dietary essential fatty acids upon composition of polyunsaturated fatty acids in depot fat and erythrocytes in the rat.
J. Lipid Res. 4, 346 (1963)
- 29) Morton, R. A. and Horner, A. A.:
The liver-lipid constituents of male and female rats.
Biochem. J. 79, 631 (1961)
- 30) Müller, W. A.: Stoffwechsel und Wirkungsweise lipotroper Faktoren.
Dtsch. Med. Wschr. 81, 127 (1956)
- 31) Nelson, G. J. and Freemann, N. K.:
Serum phosphatide analysis by chromatography and infrared spectrophotometry.
J. Biol. Chem. 234, 1375 (1959)
- 32) Nye, W. H. R., Waterhouse, C. and Marinetti, G. V.:
The phosphatides of human plasma I: Normal values determined by paper and column chromatography.
J. Clin. Invest. 40, 1194 (1961)
- 33) Philips, G. B.: The lipid composition of serum in patients with liver disease.
J. Clin. Invest. 39, 1639 (1960)
- 34) Polli, E. und Ratti, G.:
Die Fettfraktionen in pathologischen Lebern.
Biochem. Zschr. 321, 166 (1950)
- 35) Schön, H., Krause, U. und Elster, K.:
Das Fettsäuremuster der menschlichen Leber im Zustand der Verfettung.
Klin. Wschr. 41, 743 (1963)
- 36) Scholderer, D.:
Das Verhalten individueller Serumphosphatide bei Leberkrankheiten und Hypercholesterinämie.
Dissertation, München (1965)

- 37) Schrade, W. ; Biegler, R. und Böhle, E. :
Die Veränderungen der essentiellen Fettsäuren des Blutes bei verschiedenen Krankheiten, ihre Bewertung und ihre Bedeutung für die Ernährung.
Schweiz. med. Wschr. 89, 117 (1959)
- 38) Schrade, W. , Böhle, E. , Biegler, R. und Teicke, R. , Ullrich, R. :
Die Fettsäuren der Cholesterinester, Phospholipide und Triglyceride, sowie die unveresterten Fettsäuren bei Gesunden und Arteriosklerotikern.
Klin. Wschr. 39, 739 (1960)
- 39) Schrade, W. , Böhle, E. und Biegler, R. :
Über Fortschritte der Stoffwechselforschung und ihre klinische Bedeutung.
Dtsch. med. Wschr. 86, 781 (1961)
- 40) Schrade, W. , Biegler, R. und Böhle, E. :
Fatty acid distribution in the lipid fractions of healthy persons of different age, patients with atherosclerosis and patients with idiopathic hyperlipidaemia.
J. Atheroscl. Res. 1, 47 (1961)
- 41) Sperry, W.M. : Lipide analysis. In: Methods of Biochemical analysis, 2, 83, New York-London: Interscience Publishers 1955
- 42) Stahl, E. :
Dünnschichtchromatographie.
Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg, 8 (1962)
- 43) Takahashi, J. and Tanaka, K. :
Gaschromatographic analysis of the fatty acids composition of human fatty liver.
J. Biochem. Tokyo 49, 713 (1961)
- 44) Tischer, K. , Opalka, E. and Glenn, A.J.L. :
Fatty acids of liver phosphatides from rats on a fat-free diet.
Feder. Proc. 22, 377 (1963)
- 45) Vikrot, O. :
Plasma-Phospholipides in pregnancy.
Lancet II, 891 (1963)
- 46) Wagner, H. :
Neuere Ergebnisse auf dem Gebiet der Isolierung und Analytik von Phosphatiden und Glykolipiden.
Fette, Seifen, Anstrichmittel 62, 1115 (1960)

- 47) Weber, E. : Grundriß der biologischen Statistik.
Leipzig (1964), 5. Auflage, 154
- 48) Witting, L. A. , Harvey, C. C. , Century, B. and Horwitt, M. K. :
Dietary alterations of fatty acids of erythrocytes and
mitochondria of brain and liver. J. Lipid Res. 2, 412 (1961)
- 49) Zöllner, N. und Kirsch, K. :
Die säulenchromatographische Trennung der Plasmalipoide.
Zschr. exper. Med. 134, 10 (1960)
- 50) Zöllner, N. und Wolfram, G. :
Über die Zusammensetzung der Cholesterinester bei eini-
gen Lebererkrankungen.
Klin. Wschr. 39, 817 (1961)
- 51) Zöllner, N. und Wolfram, G. :
Dünnschichtchromatographische Systeme zur Trennung der
Plasmalipoide.
Klin. Wschr. 40, 1101 (1962)
- 52) Zöllner, N. und Eberhagen, D. :
Untersuchung und Bestimmung der Lipide im Blut.
Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York (1965), 193

Herrn Professor Dr. Nepomuk Zöllner möchte ich für die Überlassung des Arbeitsplatzes, für die Einführung in das vorliegende Thema und für wertvolle Hinweise im Verlauf der Arbeit danken.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. Günther Wolfram und Fräulein Katharina Kirsch, die mich in die experimentelle Arbeit einführten und mir viele praktische Ratschläge erteilten.

LEBENS LAUF

Am 15. Juli 1940 wurde ich als zweites Kind des Elektro-
meisters Xaver Alter und dessen Ehefrau Maria, geb. Fin-
kenzeller in Geisenfeld/Ilm geboren. Dort verbrachte ich
meine Jugend und besuchte die Volksschule. Im Herbst 1951
trat ich in die Christoph-Scheiner Oberrealschule in Ingol-
stadt/Donau ein und legte 1960 die Reifeprüfung ab.

Das Medizinstudium begann ich im Herbst 1960 an der Uni-
versität München, wo ich 1961 die naturwissenschaftliche
und im Wintersemester 1962/63 die ärztliche Vorprüfung
bestand. Im Sommer 1966 legte ich in München das medizi-
nische Staatsexamen ab und bin nun als Medizinalassistent
an der Medizinischen Poliklinik der Universität München
tätig.

